

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA SROSSMAYERA
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivan Mikić, apsolvant

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**PATOGENOST *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* ZA MRKVU, RAJČICU I
KRSTAVAC**

Diplomski rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA ŠROSSMAYERA
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivan Mikić, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**PATOGENOST *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* ZA MRKVU, RAJČICU I
KRASTAVAC**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. Prof. dr. sc. Nada Parađiković, član

Osijek, 2014.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Pregled literature	3
3. Materijal i metode.....	11
3.1. Utjecaj podloge i temperature na razvoj i porast <i>S. sclerotiorum</i>	11
3.2. Umjetna infekcija plodova mrkve, rajčice i krastavca.....	11
3.2.1. Umjetna infekcija mrkve.....	12
3.2.2. Umjetna infekcija plodova rajčice.....	13
3.2.3. Umjetna infekcija plodova krastavca.....	13
4. Rezultati.....	15
4.1. Razvoj <i>S. sclerotiorum</i> na različitim podlogama i temperaturama.....	15
4.1.1. Porast micelija <i>S. sclerotiorum</i>	15
4.1.2. Razvoj sklerocija.....	22
4.2. Infekcija mrkve gljivom <i>S. sclerotiorum</i>	24
4.3. Infekcija plodova rajčice gljivom <i>S. sclerotiorum</i>	26
4.4. Infekcija plodova krastavca gljivom <i>S. sclerotiorum</i>	27
5. Rasprava.....	29
6. Zaključak.....	33
7. Popis literature.....	35
8. Sažetak.....	40
9. Summary.....	41
10. Popis tablica.....	42
11. Popis slika.....	43
12. Popis grafikona.....	44
Temeljna dokumentacijska kartica.....	45
Basic documentation card.....	46

1. Uvod

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary zemljišni je parazit koji napada veliki broj biljnih vrsta u svim stadijima rasta i razvoja, te njihove plodove nakon žetve odnosno berbe. *S. sclerotiorum* uzročnik je bolesti za koju se, ovisno o domaćinu kojeg napada, koristi više od 60 naziva kao što su trulež stabljike, trulež vrata korijena, trulež glave, palež cvijeta, venjenje, rak stabljike ili najčešće bijela trulež (Purdy, 1979.).

S. sclerotiorum parazitira na ukupno 408 biljnih vrsta svrstanih u 278 rodova i 75 porodica (Bolland i Hallu, 1994.). Najveći broj vrsta koje gljiva napada pripadaju porodicama *Solanaceae*, *Cruciferae*, *Umbelliferae*, *Compositae*, *Chenopodiaceae* i *Leguminosae* (Willets i Wong, 1980.) pa čini štete na brojnim kultiviranim vrstama kao što su suncokret, soja, uljana repica, lucerna, duhan, leća, grah, rajčica, krastavac, salata, mrkva, bundeva, luk, češnjak, citrusno voće, začinsko bilje (timijan, ružmarin) i mnogim drugima (Bolland i Hall, 1994., Barkai-Golan, 2001., Saharan i Mehta, 2008.). Tako primjerice na suncokretu *S. sclerotiorum* uzrokuje četiri tipa bolesti i to truljenje sjemena i propadanje mladih biljčica, korijenski tip bolesti i venjenje biljaka, truljenje srednjeg dijela stabljike, truljenje glave (Ćosić i sur., 2012.). Uzročnik bijele truleži osim kulturnih, ima domaćine i među korovnim vrstama kao što su primjerice mračnjak (*Abutilon theophrasti* Medick.), limundžik (*Ambrosia artemisiifolia* L.) te oštrodлакavi šćir (*Amaranthus retroflexus* L.) (Jurković i Ćosić, 2004.).

Ekonomski je značajan uzročnik bolesti te čini štete i ekonomske gubitke na uljaricama, grahoricama, povrću i ukrasnom bilju. Značajne štete i gubitke u prinosu čini povrtnim kulturama kao što su salata, celer, krumpir i kupus (Purdy, 1979.). Godišnji gubici uslijed zaraze ovom gljivom u Sjedinjenim Američkim Državama iznose preko 200 mil. dolara (Bolton i sur., 2006.).

Do zaraze povrća gljivom *S. sclerotiorum* može doći u svim fazama njihova razvoja i rasta, od klijanaca do zriobe. Simptomi su slični, međutim, razlikuju se od domaćina do domaćina. Na nekim domaćinima gljiva zaražava donji dio stabljike blizu tla te razmekšava srž stabljike što dovodi do propadanja biljke. U ili na zaraženom tkivu dolazi do pojave gustog bijelog pamučastog micelija i pojave mladih sklerocija. Sklerocije nastaju kao kompaktna bijela tijela sastavljena od hifa veličine zrna ječma, no razlikuju se s obzirom na domaćina i okolišne uvjete. Kasnije sklerocije postanu crne. Ponekad gljiva zarazi srž biljaka te nema pojave vanjskog micelija, a proraste cijelu biljku i unutar nje

stvara sklerocije. Ovakav je tip bolesti čest kod rajčice, krumpira, krastavca, kupusa i repe. Kod povrća iz porodice krstašica, prvi simptom javlja se u vidu sivih linearnih lezija na glavnoj stabljici, a krajnja posljedica je zaostalost biljaka u rastu. Na ubranim plodovima u skladištu dolazi također do pojave micelija i razvoja sklerocija. Tkivo domaćina postaje meko i vodenasto kako bolest napreduje, a truli dijelovi gube vodu i suše se. Osim stabljike, zaraženi mogu biti i drugi dijelovi biljke kao što su korijen, list, peteljke, cvijet. Do zaraze plodova dolazi kako tijekom vegetacije tako i nakon berbe tijekom skladištenja (Saharan i Mehta, 2008., Walker, 1969.).

Na razvoj kulture *S. sclerotiorum* u laboratoriju utječu različiti čimbenici. Gljiva na podlogama stvara bijeli micelij, te crne sklerocije. Porast i izgled micelija, te razvoj, razmještaj, boja i krupnoća sklerocija uvelike mogu ovisiti o podlozi, temperaturi, pH vrijednosti te samom izolatu *S. sclerotiorum* (Kohn, 1979., Cuong i Dohroo, 2006., Jeon i sur., 2006., Sharma i sur., 2013.).

Cilj rada bio je utvrditi razvoj i porast micelija i sklerocija gljive *S. sclerotiorum* na tri temperature (15, 22 i 30 °C) i dvije hranjive podloge (PDA podloga i podloga od mrkve). Provedena su i tri pokusa umjetne infekcije plodova rajčice, mrkve i krastavca kako bi se pratio razvoj micelija *S. sclerotiorum* te pojava simptoma.

2. Pregled literature

Ukoliko je zaraženo 10% biljaka soje uzročnikom *S. sclerotiorum*, prinos sjemena kreće se od 83,2 do 229,0 kg/ha s prosječnim gubitkom prinosa od 136 kg/ha (Danielson i sur., 2004.).

Prema Lobo i sur. (2000.) prinos rajčice kod jake zaraze uzročnikom bijele truleži može biti smanjen za 84,3%, a veličina ploda za 62%. Ukoliko do zaraze dođe od rane cvatnje pa do sredine cvatnje, prinos može biti u potpunosti uništen u usporedbi kad su biljke zaražene neposredno pred berbu.

Onaran i Yanar (2009.) navode da prinos krastavca uzgajanog u staklenicima pri pojavi bijele truleži može biti smanjen i do 80%.

Direktne štete na plodu mrkve tijekom skladištenja uslijed pojave bijele truleži mogu biti izrazito velike, a iznose od 30% (Finlayson i sur., 1989.) do 50% (Anonymous, 1970.).

Yanar i sur. (1996.) navode gubitke prinosa paprike od 30-40% uzrokovane truljenjem stabljike uslijed zaraze *S. sclerotiorum*, a gubitak prinosa krumpira prema Quentin (2004.) može biti i do 30%.

Uzročnik bijele truleži široko je rasprostranjen, ali preferira relativno hladnije i vlažnije predjele. Na području Mediterana tijekom ljeta gotovo da nema pojave bolesti (Hoes and Huang, 1975.).

Optimalne temperature za razvoj *S. sclerotiorum* su između 15-21°C, uz visoku vlažnost zraka. *S. sclerotiorum* preživljava kao micelij na mrtvom i živom biljnom tkivu ili kao sklerocije u tlu ili na zaraženom biljnom tkivu (Agrios, 1997.). Sklerociji kao osnovni izvor zaraze kliju ili u micelij ili u apotecij s askusima i askosporama (karpogeno klijanje). Klijanjem sklerocija u tlu nastaje micelij koji se prvo naseli na mrtvu organsku tvar, zatim prodire u korijen i vrši zarazu. Ukoliko se radi o stabljičnom tipu bolesti, odnosno zarazi nadzemnih dijelova, zarazu obavljaju askospore, odnosno hife iz proklijalih askospora se šire s lista na lisnu peteljku i stabljiku kroz oštećene biljne dijelove. Askospore su značajne za širenje bolesti. Za klijanje askospora i ostvarivanje zaraze potrebna je slobodna voda na površini biljnog tkiva te dodatni izvor energije kao što su mrtva tkiva u ranama, odumrli dijelovi cvijeta ili polen (Adams i Ayres, 1979., Jurković i Ćosić, 2004., Šubić, 2009.).

Sjeme također može biti izvor zaraze, bilo da je zaraženo micelijem ili sklerocijama (Mordue i Holliday, 1998.).

Vitalnost sklerocija ovisi o dubini na kojoj se sklerocije nalaze, ali može biti visoka i nakon tri godine u tlu (Hoes and Huang, 1975.). Dugovječnost sklerocija i mogućnost karpogenog klijanja sklerocija ovisi o dubini na kojoj se nalaze. U povoljnim uvjetima temperature i vlažnosti većina sklerocija može preživjeti u tlu najmanje tri godine (Harvey i sur., 1995.). Na neobrađenim tlima sklerocije dublje u tlu (10 i 30 cm) imaju veću sposobnost preživljavanja od onih smještenih plitko u tlo (5 cm), posebice u nepovoljnim uvjetima kao što je poplava (Ćosić i sur., 2012.).

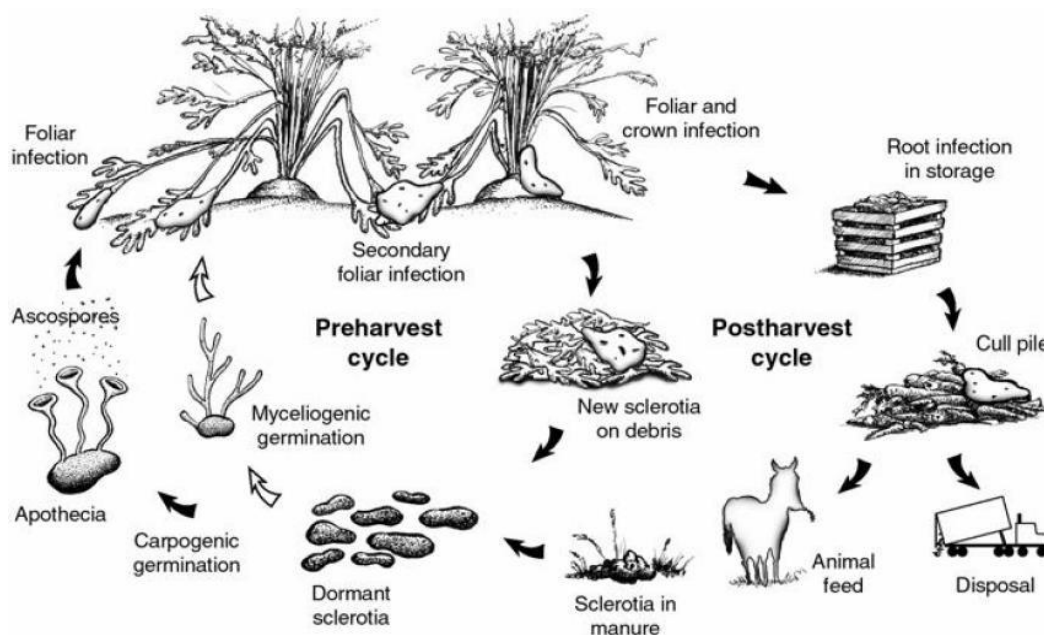
Do zaraze stabljike rajčice najčešće dolazi u prizemnim pazušcima listova. Do zaraze može doći i na sekundarnim stabljikama počevši od mjesta grananja ili na mjestima gdje je tkivo ozlijeđeno. Na mjestima zaraze uzrokuje duguljaste vodene pjegice koje se brzo povećavaju i prstenasto obuhvaćaju stabljiku. Oboljeli dio tkiva razmekša, dobije svjetlo sivu ili svjetlo sivu do tamno smeđu boju i odumre. U povoljnim uvjetima na zaraženim se dijelovima formira bijeli pahuljasti micelij koji prekriva zaraženu površinu te se isti takav micelij formira unutar stabljike. Unutar micelija se ubrzo formiraju crni sklerociji koji predstavljaju osnovni izvor zaraze. Ukoliko je vrijeme toplo i suho, ne dolazi do razvoja vlažne truleži, već se tkivo suši, a biljke ugibaju. Na zaraženim plodovima rajčice tijekom transporta i u skladištu dolazi do pojave lezija, koje se razmekšavaju te se ubrzo na njima formira bijeli micelij i sklerociji (Jurković i Vrandečić, 2009., Šubić, 2009., Sherf i Macnab, 1986.).

Kod krastavaca, kao i kod rajčice, zaražena najčešće biva glavna stabljika, ali mogu biti zaražene i sekundarne grane. Dolazi do pojave vodenastih pjega svjetlosmeđe do tamnosmeđe boje te pojave bijelog micelija i sklerocija (Sherf i Macnab, 1986.).

Na plodovima krastavca nakon zaraze dolazi do omekšavanja tkiva te pojave bijelog micelija prekrivenog kapljicama vode. Tri do pet dana kasnije plodovi potpuno trunu. Slični simptomi javljaju se i na ostalim dijelovima biljke. Pjega na stabljici prekrivene su bijelim pamučastim micelijem, a dolazi i do razmekšavanja peteljki, listova i pupova, dok na listovima dolazi i do pojave nekrotičnih pjega (Zakeri, 1998.).

S. sclerotiorum ekonomski je značajan uzročnik bolesti na mrkvi i javlja se u polju prije berbe, a isto tako nakon berbe tijekom skladištenja mrkve (shema 1.) (Kora i sur., 2003.).

S. sclerotiorum prvi put je na mrkvi utvrđena 1860. godine u Belgiji (Sherf i Macnab, 1986.). Uzročnik napada i nadzemne dijelove i korijen mrkve. Mrkva je posebice osjetljiva u kasnijoj vegetaciji i tijekom skladištenja. U ranim fazama razvoja može doći do propadanja mladih klijanaca. Kasnije infekcije nadzemnih dijelova smanjuju prinos korijena mrkve (Geary, 1978.).



Shema 1. Ciklus bolesti uzročnika *S. sclerotiorum* na mrkvi tijekom vegetacije i skladištenja (Izvor: <http://apsjournals.apsnet.org/action/showImage?doi=10.1094/PDIS.2003.87.5.456&iName=master.img-007.jpg&w=503&h=320>)

I micelij i askospore vrše zarazu mrkve u polju. Zaraza najčešće nastaje nakon zatvaranja redova i to na starijim uvelim listovima ili onima koji su u doticaju s vlažnim tlom. Na starijim listovima i peteljka na donjem dijelu lisne mase dolazi do pojave vodenastih maslinasto zelenih lezija prekrivenih bijelim micelijem, a micelij se širi bazipetalno prema rozeti i na druge nezaražene biljke. Na kraju peteljke izblijede i čitava biljka može uvenuti. Krupne sklerocije (do 20 mm) se formiraju unutar micelija ili na zaraženim peteljka (Saharan i Mahta, 2008., Kora i sur., 2005., Geary, 1978.).

Do zaraze korijena mrkve u skladištu dolazi najčešće zbog prethodne zaraze u polju i odvija se putem vrata korijena (Finlayson i sur., 1989., Geary, 1978.). Na vratu korijena mrkve zaraženog uzročnikom bijele truleži dolazi do pojave lezija odnosno razmekšanog tkiva i bijeloga micelija. Micelij se s već zaraženih plodova može proširiti na susjedno

zdravo korijenje u skladištu na kojem se zaraza javlja na svim dijelovima korijena u vidu okruglih vodenastih obezbojenih lezija. U kasnijim stadijima, lezije na korijenu se povećavaju, postaju razmekšane i vodenaste, trulež je bez mirisa, a zaraženo tkivo potamni i prekriveno je bijelim micelijem na kojem se razvijaju sklerocije. Zaražene mrkve povezane su micelijem u kompaktnu masu. Drugi mikroorganizmi mogu naseliti već zaraženo tkivo i pridonijeti daljnjem razmekšavanju i truljenju te potpunom propadanju korijena. Zaraze nakon berbe u skladištu najčešće su posljedica jake zaraze u polju (Saharan i Mehta, 2008., Kora i sur., 2005.). Dodatni izvor zaraze korijena mrkve u skladištu može biti micelij na spremnicima u kojima se mrkva skladišti ili na nečistoćama koje se nalaze na korijenu mrkve (Kora i sur., 2003.). U Finskoj su utvrđeni plodovi mrkve s neobičnim šupljinama nakon mjesec dana skladištenja u plastičnim vrećama uslijed zaraze *S. sclerotiorum* (Koponen i Valkonen, 1996.).

Prema Abdullah i sur. (2008.) na klijancima rajčice, patlidžana i bundeve *S. sclerotiorum* uzrokuje pojavu smeđih pjega na stabljikama koje se razmekšaju ili venuće i propadanje biljčica. Postotak zaraženih biljaka razlikuje se ovisno o vrsti domaćina te uvjetima razvoja. U klima komori postotak zaraženih biljaka bundeve i rajčice bio je podjednak i iznosi 78,3% odnosno 76%, dok je najveća zaraza zabilježena na klijancima patlidžana i to 84,6%. U stakleniku, zabilježena je najviša zaraza na klijancima patlidžana (preko 85%), dok je najniža bila na rajčici (oko 73%) i nešto viša na bundevi (oko 77%).

Spotts i Cervantes (1996.) ispitivali su mogućnost zaraze plodova kruške gljivom *S. sclerotiorum* tijekom vegetacije. Rezultati su pokazali da je do 100% inokuliranih plodova zaraženo, a s obzirom na vrijeme zaraze veličine lezija iznosile su od 9 do 95 mm. U vrijeme berbe od 93 do 100% zaraženih plodova osušilo se i otpalo sa stabla.

Sklerocije *S. sclerotiorum* nalaze se na površini bijelog gustog micelija, okruglaste su do cilindrične, ali prilično varijabilne u obliku, veličine od 2-30 x 2-15 mm. Vanjski dio je taman, crn, a unutrašnji bijel. U kulturi se razvijaju na marginama kolonije, i često se formiraju u koncentričnim krugovima, radijalnim crtama, ili u drukčijim uzorcima (Kohn, 1979.).

Prema Kim i Cho (2003.) micelij *S. sclerotionum* izoliran iz rajčice, patlidžana, paprike i krumpira (*Solanaceae*) na PDA podlozi bijele je do sive boje. Minimalna temperatura za razvoj micelija iznosi 1 °C, a maksimalna 30 °C, dok se optimalna temperatura kreće od 22

do 24 °C. Sklerocije su crne, okruglastog do nepravilnog oblika, njihov broj po Petrijevoj zdjelici kreće se od 18 do 40, a veličina 0,6-10 x 0,6-6,5 mm.

Huang (1985.) navodi da oblik sklerocija često ovisi o domaćinu, pa su sklerocije formirane na šafranu bile konusnog oblika, a na zlatnom grahu cilindrične. Boja sklerocija utječe i na dormantnost i miceliogeno klijanje sklerocija. Crne melanizirane sklerocije klijale su na podlozi bez egzogenih nutrijenata (pijesak) samo ukoliko im je ozlijeđena kora, za razliku od smeđe obojenih i svijetlih sklerocija.

Sharma i sur. (2013.) ispitivali su morfološke karakteristike 17 različitih izolata *S. sclerotiorum*. Izolati su se razlikovali po brzini porasta micelija, boji i teksturi, svježoj i suhoj masi micelija, te broju, težini i veličini sklerocija. Razliku u porastu micelija izolata iz različitih domaćina utvrdili su Zarani i Christensin (1997.).

Spotts i Cervantes (1996.) ispitivali su utjecaj temperature (0 do 30 °C) na razvoj micelija tri izolata *S. sclerotiorum* izoliranog iz kruške. Nijedan izolat nije razvio micelij pri temperaturi od 0 °C, dok je optimalna temperatura iznosila 20 °C.

Optimalna temperatura za rast micelija *S. sclerotiorum* izoliranog s paprike prema Jeon i sur. (2006.) je 25 °C, iako je temperatura od 20 °C također povoljna za rast micelija. Na temperaturi od 30 °C rast micelija je slabiji (do 45 mm), a na temperaturi od 37 °C rast je potpuno inhibiran.

Prema Cuong i Dohroo (2006.) najveći porast micelija *S. sclerotiorum* na PDA podlozi zabilježen je na temperaturama od 20 °C (43,99 mm) do 25 °C (50,28 mm) i to četiri dana nakon inokulacije. Porast micelija pri temperaturi od 30 °C bio je slab i iznosi je 3,17 mm u promjeru. Pri temperaturi od 25 °C miceliju su bila potrebna četiri dana da ispuni Petrijevu zdjelicu, pri temperaturi od 15 °C bilo je potrebno sedam, a pri temperaturi od 5 °C micelij je ispunio Petrijevu zdjelicu za 15 dana. Optimalna temperatura za formiranje sklerocija iznosila je od 15 do 25 °C (27,25 – 30 sklerocija), dok se sklerocije pri temperaturi od 30 °C nisu formirale.

Prema Abawi i Grogan (1975.) najveći porast micelija *S. sclerotiorum* izoliranog s graha na PDA podlozi zabilježen je na temperaturama od 20 i 25 °C (60 do 65 mm) nakon 48 sati inkubacije. Na temperaturi od 30 °C nije bilo rasta micelija čak i nakon 10 dana inkubacije, dok je vrlo slab porast uočen na temperaturi od 5 °C. Na temperaturi od 25 °C proizveden

je veći broj sklerocija (>35) nego na temperaturama od 10 i 15 °C (manje od 10 odnosno oko 15). Produkcije sklerocija na temperaturi od 30 °C nije bilo.

Jeon i sur. (2006.) ispitivali su utjecaj različitih podloga na rast micelija *S. sclerotiorum*. Porast micelija bio je najbolji na PDA podlozi (44,4 mm), nešto manji na agaru od zobenog brašna (41,5 mm). Najsporiji porast micelija zabilježen je na malt agaru.

Cuong i Dohroo (2006.) ispitivali su utjecaj šest različitih podloga (PDA, agar od sjemena graška, graha, zobenog brašna, kukuruznog brašna, lista salate) na razvoj micelija i produkciju sklerocija *S. sclerotiorum*. Nakon četiri dan, najveći porast micelija zabilježen je na PDA podlozi (52,47 mm), te podlozi od graška (50,92 mm). Na podlozi od sjemena graha i zobenog brašna porast micelija bio je nešto slabiji (48,33 i 44,05 mm), ali najmanji porast zabilježen je na podlogama od kukuruznog brašna (34,66 mm) i lista salate (30,65 mm). Značajno najveći broj sklerocija i to 30,75 zabilježen je na PDA podlozi, dok je najniži broj sklerocija (1,5) zabilježen na podlozi od lista salate. Ispitivanja pet tekućih medija (Richard, Čapek, Leonian, Coon, Asthana & Hawker) pokazala su da se suha masa micelija kretala od 71,9 mm (Asthana & Hawker) do 242,85 mg (Richard), a broj sklerocija od 0,75 (Asthana & Hawker) do 15 (Richard).

Razvoj micelija i sklerocija na podlogama ovisi i o pH vrijednosti. U neutralnoj ili alkalnoj sredini razvoj sklerocija je inhibiran (Rollins i Dickman, 2001.). Coung i Dohroo (2006.) navode najveću suhu masu micelija i proizvodnju i masu sklerocija na pH 5, dok na pH 7,5-8 nije došlo do formiranja sklerocija. Jeon i sur. (2006.) kao optimalan pH također navode pH 5.

Ritchie i sur. (2009.) ispitivali su utjecaj podloge, temperature i pH vrijednosti na rast micelija gljive *Rhizoctonia solani*, produkciju sklerocija i njihovu klijavost. Rast micelija zabilježen je na svim podlogama (PDA, WA (vodeni agar), MYA (sladni agar), SEA (ekstrakt tla)), a produkcija sklerocija bila je najveća na PDA i MYA agaru. Optimalna temperatura za razvoj micelija i sklerocija kretala se između 20 i 25 °C na svim podlogama, dok je produkcija sklerocija izostala na temperaturi od 5 °C. Optimalna pH vrijednost za rast micelija bila je na 5,6. Temperatura i pH imali su utjecaj na klijavost sklerocija pa je najviša klijavost sklerocija zabilježena pri temperaturama od 20 do 30°C i pH vrijednostima 5 i 6. Rast micelija i klijavost sklerocija u tlu ovisili su o temperaturi pa je optimum bio između 20 i 25 °C, odnosno 15 i 25 °C.

Suzbijanje bijele truleži obuhvaćaju agrotehničke, mehaničke, kemijske i biološke mjere. Smanjivanje produkcije sklerocija osnova je za kontrolu bolesti (Abdullah i sur., 2008.). Snižavanje vjerojatnosti nastanka infekcije u prvom redu se postiže provedbom agrotehničkih mjera, i to sjetvom zdravog sjemena, izbjegavanjem sjetve na kontaminiranim površinama te primjenom višegodišnjeg plodoreda. Smanjivanju količine inokuluma patogena pridonosi se i uništavanjem korovnih vrsta koje gljiva napada te izbjegavanje sjetve u blizini prošlogodišnjih površina na kojima su bile kulture osjetljive na *S. sclerotium* (Jurković i Ćosić, 2004.). Međutim, samo primjena plodoreda kao mjere suzbijanja nije učinkovita zbog dugovječnosti sklerocija u tlu, te vrlo širokog spektra domaćina koje gljiva napada (Li i sur., 2003., Davis i sur., 1994.).

Kemijske mjere zaštite od *S. sclerotium* odnose se na primjenu fungicida. Važno je istaknuti da u RH ne postoji niti jedno registrirano kemijsko sredstvo za suzbijanje *S. sclerotium* na krastavcu, dok su za zaštitu rajčice i mrkve dozvoljena sredstva na osnovi fenheksamida i fludioksinil + ciprodinila, odnosno tebukonazol + trifloksistrobina (Cvjetković i sur., 2014.).

Biološka kontrola patogena, posebice zemljišnih parazita, primjerena je alternativa primjeni kemijskih fungicida. Poznato je više od 30 vrsta antagonističkih mikroorganizama, superparazita na sklerocijama i miceliju, i to gljiva iz roda *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Coniothirium* i drugih (Jurković i Ćosić, 2004.). Antagonist *Ulocladium atrum* učinkovit je u kontroli *S. sclerotium* (Li i sur., 2003.), kao i vrste iz roda *Pseudomonas* koje inhibiraju klijavost askospora antibiozom (Fernando i sur., 2007.).

Abdullah i sur. (2008.) ispitivali su mogućnost biološke kontrole *S. sclerotium* primjenom jednog izolata *T. harzianum* i dva izolata *Bacillus amyloliquefaciens*. Rezultati istraživanja su pokazali da *T. harzianum* i *B. amyloliquefaciens* inhibiraju rast i produkciju sklerocija mikoparazitizmom i antibiozom te antagonizmom. U *in vitro* uvjetima, *T. harzianum* kolonizirala je i uništila formirane hife i sklerocije *S. sclerotium* te inhibirala pojavu novih sklerocija, dok su bakterijski izolati inhibirali rast micelija do 55%, te smanjili produkciju sklerocija. U pokusu s klijanima rajčice izolati su imali jednako dobar učinak kao i komercijalni pripravci SoilGard i PlantShield, a dobri rezultati postignuti su i na klijanima bundeve i patlidžana (preko 80% zdravih biljaka). U pokusima u klima komori na klijanima bundeve i rajčice svi izolati pokazali su dobru kontrolu *S. sclerotiuorum*, iako nešto nižu od komercijalnih pripravaka. U pokusima u stakleniku,

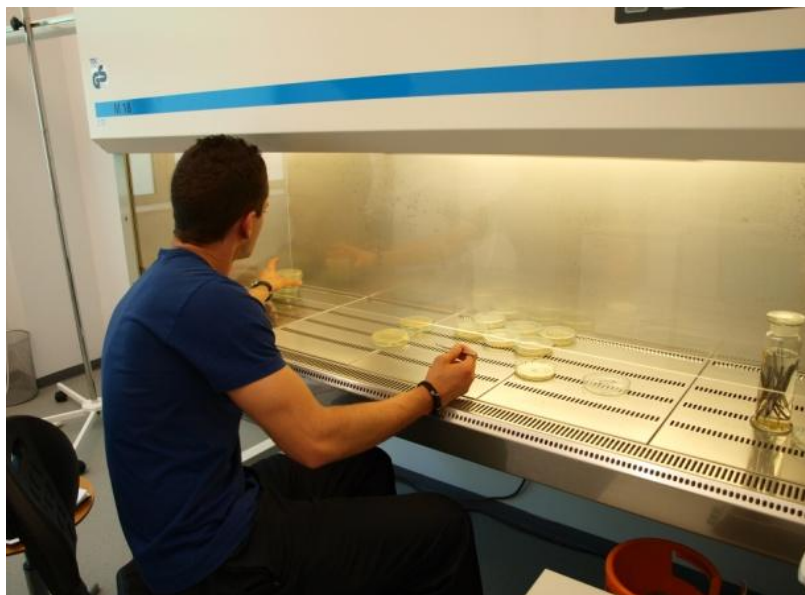
klijanci bundeve nisu bili niti zaraženi niti su uginuli pri primjeni *T. harzianum* ili *B. amyloliquefaciens*. Bakterijski izolati pokazali su 100%-tnu kontrolu na rajčici, dok je *T. harzianum* pokazala 100%-tnu kontrolu na klijancima patlidžana.

Onaran i Yanar (2011.) ispitivali su 23 soja odnosno 19 vrsta bakterija kao potencijalne biološke agense u kontroli *S. sclerotiorum*. Pokusi su provedeni *in vitro* i *in vivo* na plodovima krastavca. Rezultati su pokazali da je čak sedam bakterijskih sojeva potpuno inhibiralo rast micelija te uzrokovalo gubitak vijabilnosti sklerocija.

3. Materijal i metode

3.1. Utjecaj podloge i temperature na razvoj i porast *S. sclerotiorum*

Za proučavanje razvoja i porasta gljive *S. sclerotiorum* korištene su dvije različite hranjive podloge - PDA podloga i podloga od mrkve koje su pripremljene i razlivene u Petrijeve zdjelice u Laboratoriju za fitopatologiju. U sterilnim uvjetima koristeći laminarij u Petrijeve zdjelice na sredinu podloge sterilnom iglom su stavljeni kružni isječki podloge (5 mm) i razvijenog micelija odnosno po jedna sklerocija (slika 1.). Petrijeve zdjelice su inkubirane na tri različite temperature i to 15, 22 i 30 °C. Za svaku temperaturu i podlogu nacijepljene su po dvije Petrijeve zdjelice. Razvoj micelija i sklerocija praćen je na navedenim temperaturama tijekom 14 dana.



Slika 1. Nacjepljivanje gljive *S. sclerotiorum* u laminariju (original)

3.2. Umjetna infekcija plodova mrkve, rajčice i krastavca

Pokusi umjetne infekcije plodova mrkve, rajčice i krastavca gljivom *S. sclerotiorum* provedeni su u Laboratoriju za fitopatologiju Poljoprivrednoga fakulteta u Osijeku tijekom 2013. i 2014. godine.

3.2.1. Umjetna infekcija mrkve

U pokusu su korištene četiri mrkve koje su ozlijeđene sterilnim skalpelom. Na rane dvaju plodova nanese su isječki micelija promjera 3 mm, a na rane preostala 2 ploda nanese su sklerocije. Inokulirana mjesta su prekrivena vatom navlaženom u destiliranoj vodi te je svaka mrkva zasebno stavljena u prozirnu PVC vrećicu kako bi se održala visoka vlaga (slika 2.).

Po jedna mrkva zaražena micelijem i jedna zaražena sklerocijom su stavljene na sobnu temperaturu (21 °C) u prirodne uvjete (prozor), dok su preostala dva ploda stavljena na istu temperaturu, ali u termostatskom komoru, bez prisustva svjetlosti. U pokusu je kroz tri tjedna praćen razvoj bolesti.



Slika 2. Infekcija plodova mrkve sklerocijama i micelijem *S. sclerotiorum* (original)

3.2.2. Umjetna infekcija plodova rajčice

U pokusu su korištena četiri ploda rajčice koja smo ozlijedili sterilnim skalpelom te su na rane nanosili isječki micelija, odnosno sklerocije kao i u pokusu s mrkvom. Inokulirana mjesta su prekrivena vatom navlaženom u destiliranoj vodi te je svaki plod zasebno stavljen u laboratorijsku čašu. Čaše su zatvorene poklopcima i stavljene u klima komoru na istu temperaturu kao i u prethodnom pokusu.

U pokusu je praćen razvoj bolesti tijekom 10 dana.



Slika 3. Infekcija plodova rajčice sklerocijama i micelijem *S. sclerotiorum* (original)

3.2.3. Umjetna infekcija plodova krastavca

U pokusu su dva ploda krastavca umjetno inokulirana micelijem, a dva sklerocijama gljive *S. sclerotiorum*. Na ozlijeđene i inokulirane dijelove plodova su stavljeni navlažena vata i aluminijska folija te su po jedan plod zaražen micelijem i sklerocijom stavljeni u termostatsku komoru na 21 °C, a po jedan u prirodne uvjete (prozor) (slika 4.).

Razvoj bolesti praćen je kroz narednih 18 dana.



Slika 4. Infekcija plodova krastavca sklerocijama *S. sclerotiorum* (original)

4. Rezultati

4.1. Razvoj *S. sclerotiorum* na različitim podlogama i temperaturama

4.1.1. Porast micelija *S. sclerotiorum*

Porast micelija s obzirom na podlogu, temperaturu i podrijetlo (iz micelija ili sklerocija) trećeg dana mjerenja kretao se od 0 do 90,0 mm i bio je pod utjecajem svih ispitivanih tretmana. U prosjeku, a neovisno o podrijetlu, na PDA podlozi promjer micelija je iznosio 43,4 mm dok je na podlozi od mrkve bio statistički značajno manji i iznosio je 3 mm (Tablica 1). Brzina razvoja micelija statistički se značajno razlikovala i s obzirom na temperaturu. Najbrži početni porast utvrđen je na temperaturi 22 °C i u prosjeku je iznosio 40,8 mm. Na nižoj temperaturi promjer micelija bio je za 35,5%, a na višoj za 93,8% manji u odnosu na promjer micelija na 22 °C.

Tablica 1. Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija *S. sclerotiorum* (3. dan)

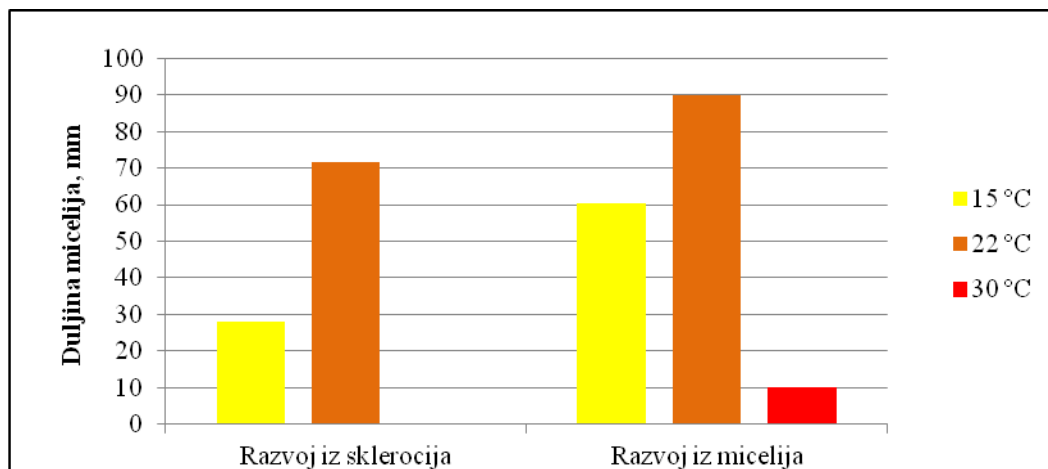
Promjer micelija (mm)			
Temperatura	Podloga		Prosjeck
	PDA	Mrkva	
15 °C	44,3 b	8,3 a	26,3 b
22 °C	80,8 a	0,8 a	40,8 a
30 °C	5,0 c	0,0 a	2,5 c
Prosjeck	43,4 A	3,0 B	23,2

LSD 0,05 - podloga – 6,76; temperatura – 8,28; podloga x temperatura – 11,7; a,b,c – razlike između vrijednosti koje sadrže isto slovo u kolonama (mala slova) i redovima (veliko slovo) nisu statistički značajne (P<0,05)

Na PDA podlozi najbrži porast micelija bio je na temperaturi 22 °C i nakon tri dana od naciepljivanja promjer je bio 80,8 mm, dok je najniža vrijednost zabilježena na temperaturi 30 °C (5,0 mm). S druge strane, na mrkvi je nakon tri dana najbrži porast micelija izmjeren na najnižoj temperaturi i iznosio je 8,3 mm.

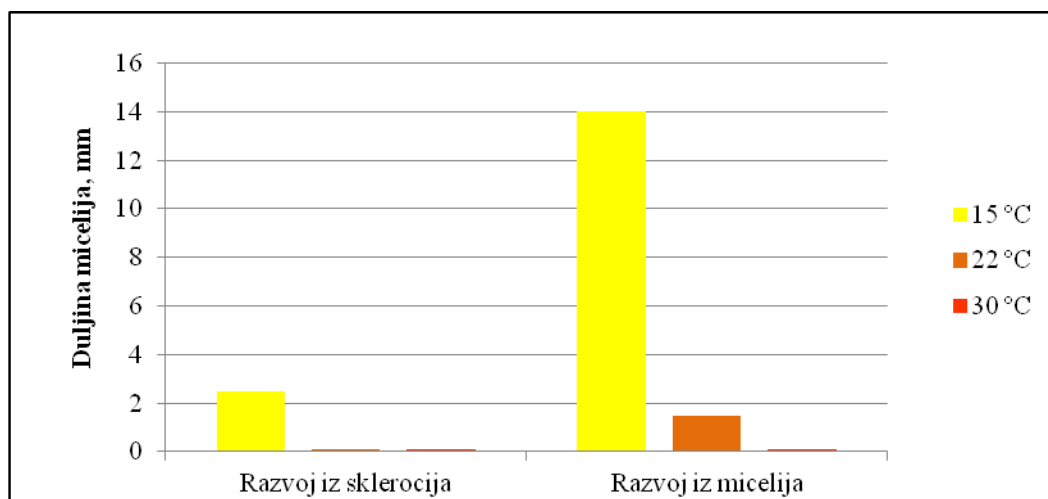
Brzina porasta micelija ovisila je i o podrijetlu pa je tako promjer micelija razvijen iz sklerocija prosječno iznosio 17 mm i bio je statistički značajno manji od micelija razvijenog iz micelija koji je iznosio 29,3 mm.

Na PDA podlozi najbrži razvoj micelija utvrđen je na temperaturi 22 °C (Grafikon 1.).



Grafikon 1. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na PDA podlozi (3. dan mjerenja)

Na podlozi od mrkve promjer micelija razvijenog iz micelija bio je veći od onog razvijenog iz sklerocija (Grafikon 2.). Na temperaturi 30 °C niti iz sklerocija niti iz micelija nije bilo razvoja novog micelija. Najbrži utvrđen je na temperaturi 15 °C i to iz micelija.



Grafikon 2. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na mrkvi (3. dan mjerenja)

Petog dana mjerenja promjer micelija se kretao od 0 do 90 mm ovisno o podlozi, temperaturi i podrijetlu. Na PDA podlozi promjer micelija bio je značajno veći nego na

podlozi od mrkve (Tablica 2.). U prosjeku je najveći promjer izmjeren na temperaturi 15 °C (58,8 mm). Najsporiji porast utvrđen je na najvišoj temperaturi.

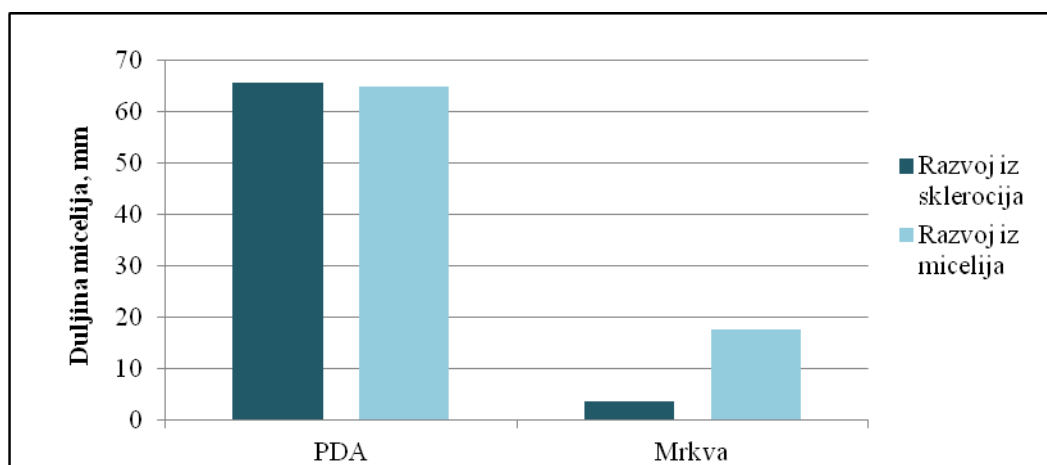
Tablica 2. Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija *S. sclerotiorum* (5. dan)

Promjer micelija (mm)			
Temperatura	Podloga		Prosjeck
	PDA	Mrkva	
15 °C	90,0 a	27,5 a	58,8 a
22 °C	90,0 a	1,5 b	45,8 b
30 °C	15,8 b	3,5 b	9,7 c
Prosjeck	65,3 A	10,8 B	38,1

LSD 0,05 - podloga – 10,15; temperatura – 12,43; podloga x temperatura – 17,57; a,b,c – razlike između vrijednosti koje sadrže isto slovo u kolonama (mala slova) i redovima (veliko slovo) nisu statistički značajne ($P < 0,05$)

Na PDA podlozi promjer micelija na temperaturama 15 i 22 °C iznosio je 90 mm, dok je na najvišoj temperaturi bio značajno manji (Tablica 2.). Kao i nakon trećeg dana, najbrži porast na podlozi od mrkve je bio na najnižoj temperaturi (27,5 mm).

Promjer micelija razvijenog iz sklerocija prosječno je bio 34,7 mm te se nije statistički značajno razlikovao od onog razvijenog iz micelija (41,3 mm). Na PDA podlozi micelij se podjednako dobro razvio i iz sklerocija i iz micelija (Grafikon 3.). S druge strane, razvoj micelija iz sklerocija na podlozi od mrkve bio je značajno slabiji (3,8 mm).



Grafikon 3. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na podlogama (5. dan mjerenja)

Daljnji rast micelija zabilježen je i sedmog dana i to na svim tretmanima, osim pri razvoju micelija iz sklerocija na podlozi od mrkve i to na 30 °C. Prosječno, na PDA podlozi i dalje je porast micelija bio statistički značajno brži (68,4 mm) u odnosu na razvoj na podlozi od mrkve (19,5 mm) (Tablica 3.).

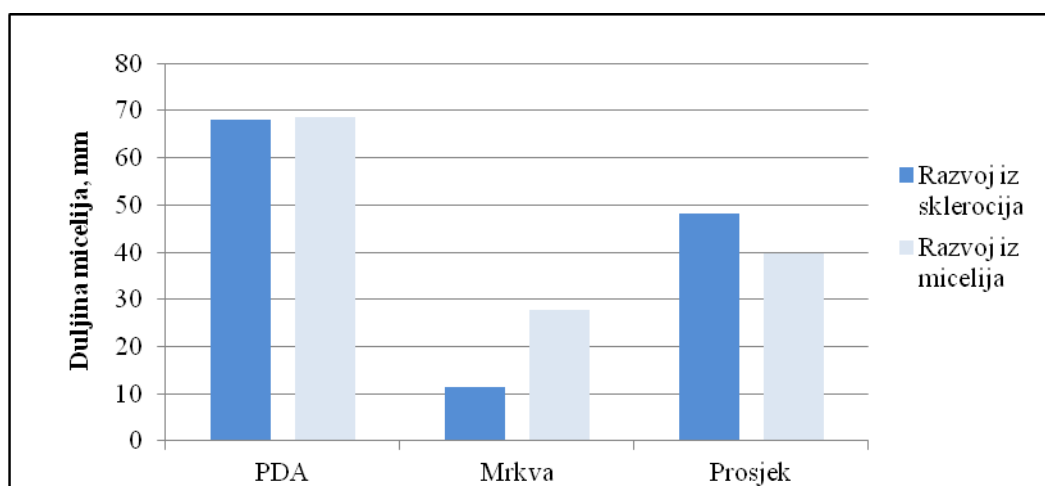
Tablica 3. Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija *S. sclerotiorum* (7. dan)

Promjer micelija (mm)			
Temperatura	Podloga		Prosjek
	PDA	Mrkva	
15 °C	90,0 a	45,8 a	67,9 a
22 °C	90,0 a	8,3 b	49,2 a
30 °C	25 b	4,5 b	14,8 b
Prosjek	68,4 A	19,5 B	44,0

LSD 0,05 - podloga – 15,28; temperatura – 18,72; podloga x temperatura – 26,47; a,b,c – razlike između vrijednosti koje sadrže isto slovo u kolonama (mala slova) i redovima (veliko slovo) nisu statistički značajne ($P < 0,05$)

Najsporiji porast na PDA podlozi bio je pri najvišoj temperaturi (Tablica 3.). Na podlozi od mrkve statistički značajno brži porast izmjeren je na 15°C u odnosu na porast micelija na višim temperaturama.

Na PDA podlozi razvoj micelija bio je podjednak iz micelija i iz sklerocija, dok je na podlozi od mrkve razvoj iz sklerocija bio značajno sporiji (Grafikon 4.).



Grafikon 4. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na podlogama (7. dan mjerenja)

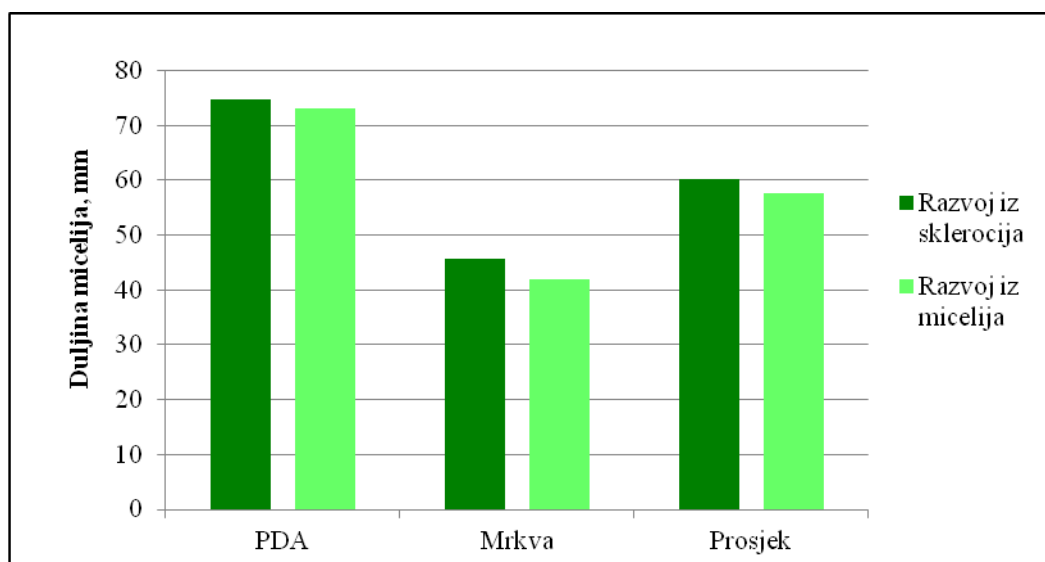
Daljni porast micelija nastavljen je u svim varijantama pokusa, a rezultati mjerenja dvanaestog dana prikazani su u Tablici 4. Promjer micelija na PDA podlozi iznosio je 73,9 mm, a na podlozi od mrkve 43,9 mm. Rast micelija zabilježen je i na svim temperaturama.

Tablica 4. Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija *S. sclerotiorum* (12. dan)

Promjer micelija (mm)			
Temperatura	Podloga		Prosjeck
	PDA	Mrkva	
15 °C	90,0 a	73,0 a	81,5 a
22 °C	90,0 a	48,3 a	69,2 a
30 °C	41,8 b	10,5 b	26,2 b
Prosjeck	73,9 A	43,9 B	58,9

LSD 0,05 - podloga – 19,64; temperatura – 24,05; podloga x temperatura – 34,02; a,b,c – razlike između vrijednosti koje sadrže isto slovo u kolonama (mala slova) i redovima (veliko slovo) nisu statistički značajne ($P < 0,05$)

Micelij se na PDA podlozi podjednako dobro nastavio razvijati i iz micelija i iz sklerocija (Grafikon 5.). Na podlozi od mrkve razvoj micelija iz sklerocija se ubrzao i nakon 12 dana promjer mu je bio 45,8 mm.



Grafikon 5. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na podlogama (12. dan mjerenja)

Rezultati posljednjeg mjerenja (14. dan od naciepljivanja) prikazani su u Tablici 5.

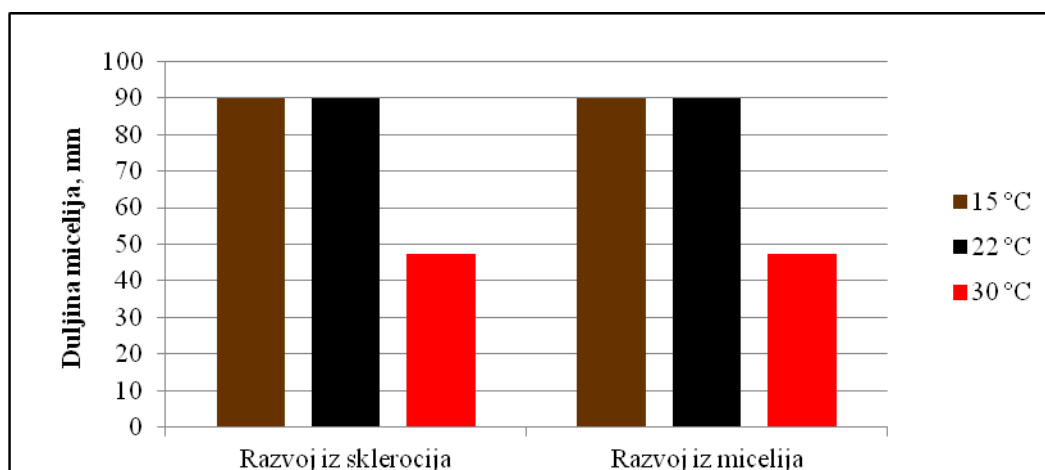
Tablica 5. Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija *S. sclerotiorum* (14. dan)

Promjer micelija (mm)			
Temperatura	Podloga		Prosjeak
	PDA	Mrkva	
15 °C	90,0 a	76,3 a	83,2 a
22 °C	90,0 a	56,3 a	73,2 a
30 °C	47,5 b	13,0 b	30,3 b
Prosjeak	75,8 A	48,5 B	58,9

LSD 0,05 - podloga – 18,87; temperatura – 23,11; podloga x temperatura – 32,77; a,b,c – razlike između vrijednosti koje sadrže isto slovo u kolonama (mala slova) i redovima (veliko slovo) nisu statistički značajne ($P < 0,05$)

Na PDA podlozi promjer micelija je i dalje bio statistički značajno veći nego na podlozi od mrkve. Promjer micelija na dvije niže temperature bio je statistički značajno veći od promjera na 30 °C (30,3 mm). Najniže vrijednosti zabilježene su na obje podloge pri na 30 °C.

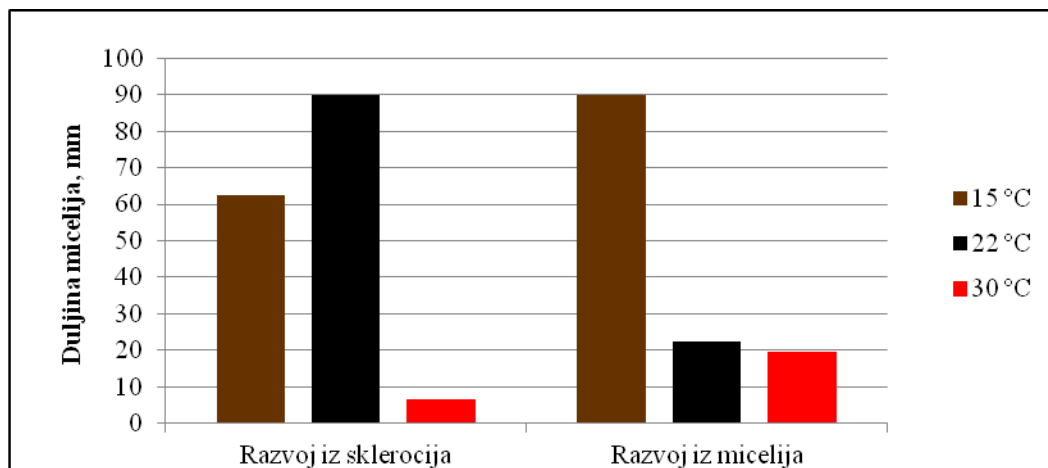
Razlika u razvoju micelija iz sklerocija i micelija na istoj temperaturi na PDA podlozi nije bilo (Grafikon 6.).



Grafikon 6. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na PDA podlozi (14. dan mjerenja)

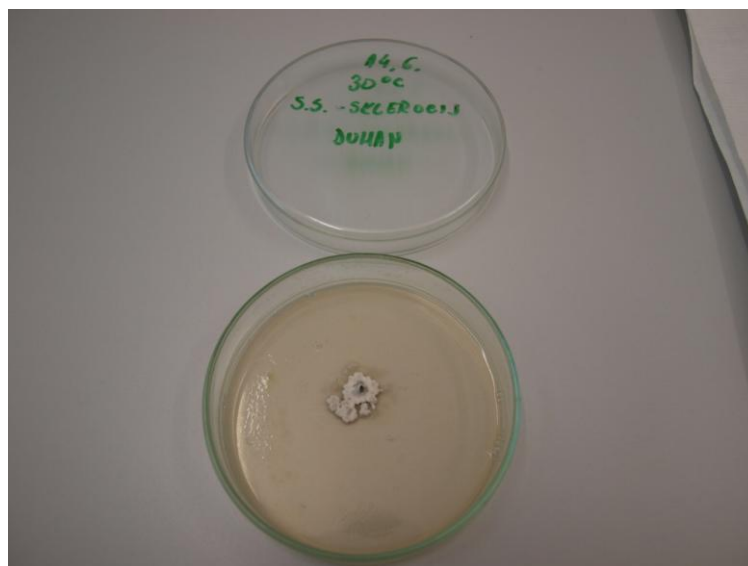
Na dvije niže temperature promjer micelija bio je 90 mm.

Na podlozi od mrkve, rast micelija razlikovao se obzirom na podrijetlo i temperaturu (Grafikon 7.). Iz sklerocija najbrži porast (90 mm) utvrđen je na 22 °C, dok je najbrži porast iz micelija bio na najnižoj (90 mm).

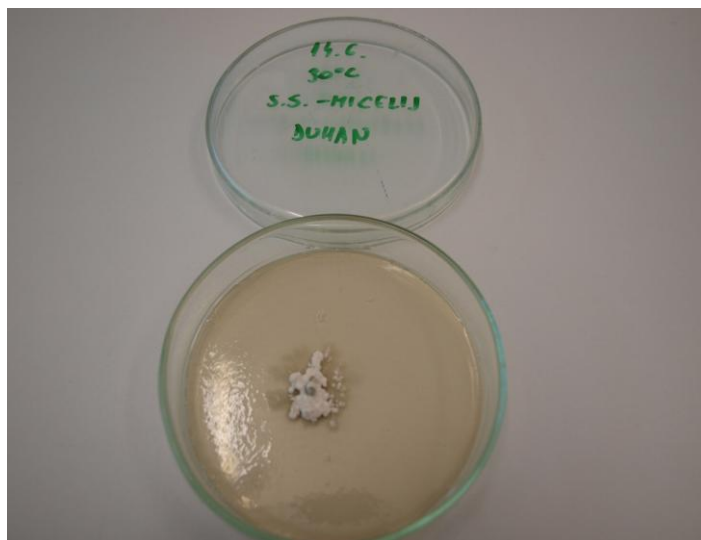


Grafikon 7. Razvoj micelija *S. sclerotiorum* na podlozi od mrkve (14. dan mjerenja)

Izgled micelija razvijenog iz sklerocija i micelija na podlozi od mrkve nakon 14 dana na 30°C prikazan je na slikama 5 i 6.



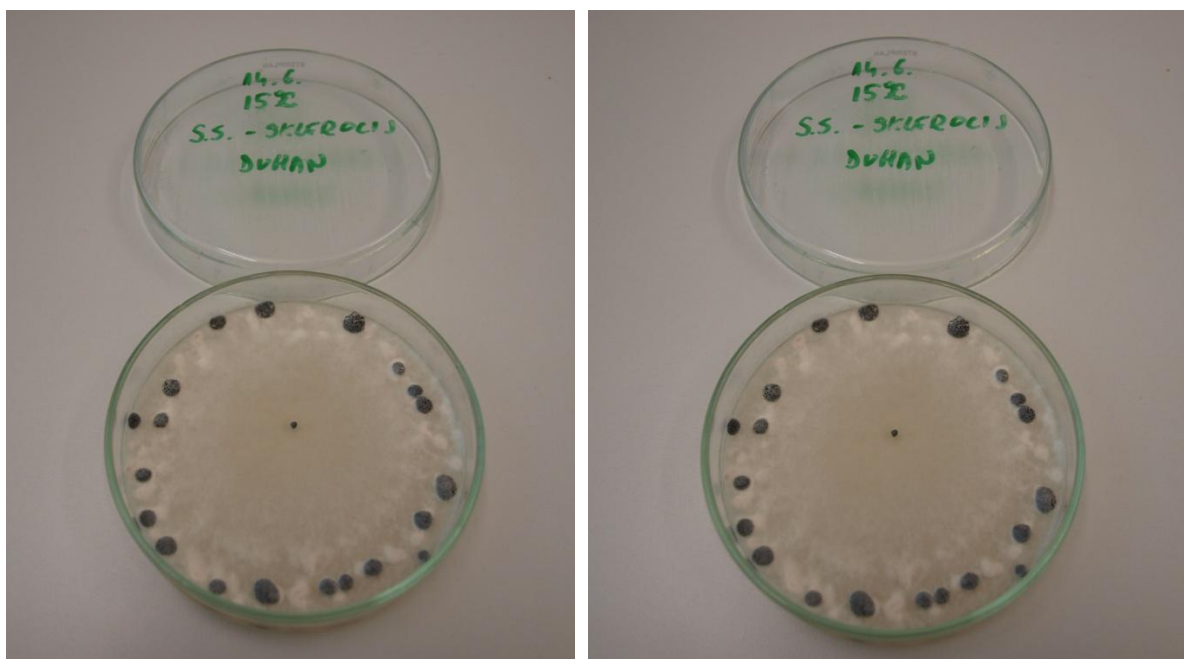
Slika 5. Razvoj micelija iz sklerocija na podlozi od mrkve i temperaturi od 30 °C (original)



Slika 6. Razvoj micelija iz micelija na podlozi od mrkve i temperaturi od 30 °C (original)

4.1.2. Razvoj sklerocija

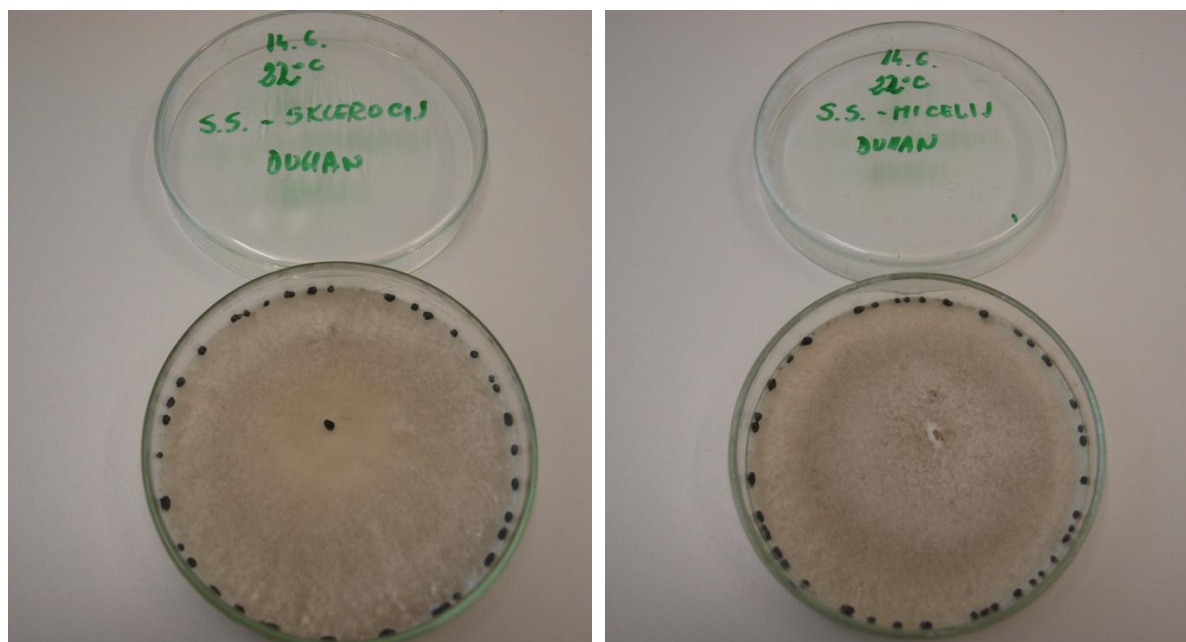
Na PDA podlozi na 15 °C petog dana mjerenja zabilježena je pojava sklerocija na miceliju razvijenom iz micelija i onom iz sklerocija (slika 7), dok je pojava sklerocija na 22 °C zabilježena samo na miceliju razvijenom iz sklerocija. Sedmog dana mjerenja zabilježena je pojava sklerocija i na miceliju razvijenom iz micelija na temperaturi od 22 °C.



Slika 7. Pojava sklerocija na PDA podlozi na temperaturi od 15 °C (original)

Dvanaestog dana na PDA podlozi i temperaturi 15 °C zabilježen je razvoj ukupno 34 sklerocije na miceliju razvijenom iz sklerocija, dok je na miceliju razvijenom iz micelija nastalo 26 sklerocija. Na temperaturi 22 °C na miceliju razvijenom iz sklerocija zabilježen je razvoj 65 sklerocija, a na miceliju razvijenom iz micelija 75 sklerocija (Slika 8.). Sklerocije razvijene na nižoj temperaturi bile su krupnije od sklerocija razvijenih na višoj temperaturi.

Na temperaturi 30 °C nije utvrđeno formiranje sklerocija na miceliju razvijenom iz micelija niti iz sklerocija.



Slika 8. Pojava sklerocija na PDA podlozi na temperaturi od 22 °C (original)

4.2. Infekcija mrkve gljivom *S. sclerotiorum*

Razvoj bijele truleži nakon obavljene infekcije praćen je tijekom tri tjedna (Tablica 6.).

Tablica 6. Razvoj bijele truleži na plodovima mrkve

Veličina bolesnih promjena (mm)				
Dan mjerjenja	Termostat komora		Dnevno svjetlo	
	Iz sklerocija	Iz micelija	Iz sklerocija	Iz micelija
7.	0,0	11,5	0,0	0,0
10.	0,0	15,0	0,0	0,0
12.	2,5	19,0	0,0	0,0
17.	8,5	zahvaćen cijeli plod	0,0	0,0
19.	8,5	-	začetak micelija	0,0

Na mrkvi zaraženoj micelijem u termostat komori prosječni porast micelija nakon 12 dana iznosio je 19 mm. Nakon 17 dana mrkva je u potpunosti zahvaćena bolesnim promjenama i micelijem te je propala (slika 9.). Micelij se na mrkvi zaraženoj sklerocijom i držanoj u komori počeo razvijati dvanaestog dana, dok je sedamnaestog dana iznosio 8,5 mm.



Slika 9. Mrkva zaražena micelijem *S. sclerotiorum* (original)

Na zaraženim plodovima čuvanim na dnevnom svjetlu razvoj micelija bio je slab (Tablica 6.). Devetnaestog dana od zaraze na mrkvi zaraženoj micelijem nije bilo porasta, dok je na mrkvi zaraženoj sklerocijama zabilježen začetak razvoja micelija (Slika 10.).



Slika 10. Mrkva zaražena sklerocijom držana u termostatu komori (original)

4.3. Infekcija plodova rajčice gljivom *S. sclerotiorum*

Na svim zaraženim plodovima rajčice drugog dana nakon zaraze došlo je do pojave truleži, a promjer tkiva zahvaćenog bolešću bio je 5 mm. Petog dana je utvrđen razvoj bujnog bijelog micelija te početak formiranja sklerocija. Promjer tkiva zahvaćenog truleži na plodovima zaraženim micelijem iznosio je 45 mm, a na plodovima zaraženim sklerocijama 70 mm. Tjedan dana od infekcije jedna trećina ploda rajčice zaraženog micelijem bila je zahvaćena truleži, dok je trulež zahvatila jednu polovinu ploda zaraženog sklerocijama.

Devetog dana na plodovima zaraženim micelijem trulež je zahvatila jednu polovinu ploda, dok su se sklerocije razvile na dvije trećine ploda. Kod plodova zaraženih sklerocijama i trulež i krupne sklerocije su zahvatile dvije trećine ploda (slika 11.).



Slika 11. Razvoj micelija i formiranje sklerocija (zaraza sklerocijama) (original)

4.4. Infekcija plodova krastavca gljivom *S. sclerotiorum*

Razvoj micelija i simptomi na plodu krastavca praćeni su tijekom 18 dana u termostat komori i na dnevnom svjetlu, a rezultati su prikazani u Tablici 7.

Tablica 7. Razvoj bijele truleži na plodovima krastavca

Veličina bolesnih promjena (mm)				
Dan mjerjenja	Termostat komora		Dnevno svjetlo	
	Iz sklerocija	Iz micelija	Iz sklerocija	Iz micelija
2.	0,0	0,0	0,0	0,0
4.	0,0	50,0 mm	0,0	15,0 mm
7.	0,0	100%	0,0	60%
9.	0,0	100%	0,0	90%
11.	0,0	100%	0,0	100%

Micelij se na plodu iz termostat komore četvrtog dana počeo razvijati te je prstenasto zahvatio plod u promjeru 50 mm, a u iduća tri dana je u potpunosti propao (Slika 12.).



Slika 12. Razvoj micelija u termostat komori (7. dan) (original)

S druge strane, na plodu čuvanom na dnevnom svjetlu promjer micelija četvrtog dana je bio 15 mm. Sedmog, odnosno devetog dana plod je bio zahvaćen bolešću 60 odnosno 90% (Slika 13. i 14.). Do potpunog propadanja ploda došlo je jedanaestog dana od zaraze.



Slika 13. Razvoj micelija na dnevnom svjetlu (7. dan) (original)



Slika 14. Razvoj micelija na dnevnom svjetlu (9. dan) (original)

Iz sklerocija do kraja pokusa nije došlo do razvoja micelija odnosno pojave simptoma truleži (Slika 15.).



Slika 15. Zaraza ploda krastavca sklerocijom i izostanak pojave simptoma (18. dan) (original)

5. Rasprava

Proučavanje rasta i morfogeneze gljiva moguće je njihovim uzgojem na različitim podlogama pri čemu se mogu kontrolirati brojni nutritivni i nenutritivni čimbenici (svjetlost, temperatura, pH podloge). Sposobnost gljive *S. sclerotiorum* da svoj životni ciklus završi na različitim umjetnim i sintetičkim podlogama (Le Tourneau, 1979.) omogućuje praćenje njenog rasta i produkcije sklerocija u raznolikim uvjetima. Rezultati dobiveni provedenim pokusima potvrđuju značajan utjecaj podloge, temperature i podrijetla micelija na karakteristike rasta *S. sclerotiorum*.

Neovisno o temperaturi i podrijetlu, razvoj i porast micelija na PDA podlozi na kraju pokusa bio je značajno viši i iznosio je 75,8 mm u odnosu na porast na podlozi od mrkve koji je iznosio 48,5 mm. Dobiveni rezultati slažu se s rezultatima drugih prema kojima je porast micelija najbrži i najbujniji na PDA podlozi, dok je na nekim drugim podlogama kao što su podloga od kukuruznog brašna i lista salate (Cuong i Dohroo, 2006.) ili malt agaru (Jeon i sur., 2006.) slabiji. Slab i sporiji rast micelija na nekim podlogama moguć je zbog prisutnosti inhibitornih tvari ili za gljivu nepovoljnog nutritivnog sastava. Nedostatak anorganskih makronutrijenata P, K, Mg i S može inhibirati i usporiti rast micelija i formiranje sklerocija *S. sclerotiorum* (Purdy i Grogan, 1954.). Dobar porast na PDA podlozi u odnosu na druge podloge pokazuju i druge gljive kao što je *Rhizoctonia solani* (Ritchie i sur., 2009.).

U prosjeku, bez obzira na podlogu i podrijetlo, provedenim pokusom utvrđen je najveći porast micelija pri temperaturi od 15 °C. Ipak, na PDA podlozi razlika micelija na dvije niže temperature nije bilo, bez obzira na podrijetlo, dok je na podlozi od mrkve iz sklerocija najbrži porast (90 mm) utvrđen na 22 °C, a najbrži porast iz micelija bio je na 15 °C (90 mm). Svakako je najslabiji razvoj micelija zabilježen na objema podlogama pri temperaturi od 30 °C. Rezultati su u skladu s rezultatima drugih istraživanja koja navode da se optimalna temperatura za razvoj micelija *S. sclerotiorum* na PDA podlozi kreće od 20 do 25°C, dok se na višim temperaturama (30 °C) micelij ili ne formira ili je porast vrlo slab (Cuong i Dohroo, 2006., Jeon i sur., 2006., Spotts i Cervantes, 1996.). Kim i Cho (2003.) navode da je minimalna temperatura za formiranje micelija 1 °C.

Sve sklerocije inokulirane na podloge klijale su miceliogeno odnosno u micelij. Niti jedna sklerocija nije klijala karpogeno dajući apotecije s askosporama. Za karpogeno klijanje

većine izolata *S. sclerotiorum* potrebni su određeni uvjeti kao što su niska temperatura, ispiranje, aerirana ili neaerirana voda, kako bi se svladala dormantnost sklerocija (Coley-Smith i Cooke, 1971., Dillard i sur., 1995.).

Formiranje, broj i veličina sklerocija *S. sclerotiorum* praćena je na PDA podlozi. Do formiranja sklerocija *S. sclerotiorum* došlo je nakon što se micelij proširio do ruba Petrijeve zdjelice. Sklerocije su se oblikovale na rubnom dijelu u krug uz rub kolonije (slike 7 i 8). Sklerocije se u kulturi razvijaju najčešće na marginama kolonije (Kohn, 1979.), međutim mogu tvoriti serije koncentričnih krugova ili neki drugi nepravilan uzorak (Humpherson-Jones i Cooke, 1977.).

Temperatura je imala utjecaj na formiranje, brojnost i krupnoću sklerocija. Na dvije niže temperature došlo je do formiranja sklerocija pet do sedam dana od inkubacije. Kao optimalnu temperaturu većina autora navodi raspon od 15 do 25 °C, iako se formiranje sklerocija odvija od 0 do 30 °C (Adams i Tate, 1976.).

Broj sklerocija u provedenom pokusu kretao se od 26 do 75. Na nižoj temperaturi (15 °C) broj sklerocija bio je manji, ali su bile krupnije (slika 7), dok su sklerocije na višoj temperaturi bile sitnije i brojnije (slika 8). Temperatura od 22 °C je bila povoljnija za pojavu sklerocija u odnosu na nižu temperaturu pa je samim time nastalo više sklerocija. Međutim, manji broj sklerocija je imao na raspolaganju veću količinu nutrijenata, što je vjerojatno rezultiralo njihovim krupnijim razvojem. Dobiveni rezultati slažu se s rezultatima drugih autora. Kohn (1979.) navodi da kulture *S. sclerotiorum* uzgajane na PDA podlozi ili diskovima mrkve pri temperaturi od 15 do 20 °C kontinuirano proizvode krupnije sklerocije. Abawi i Grogan (1975.), Murakawa i sur. (1975.) i Adams i Tate (1976.) također su utvrdili manji broj krupnijih sklerocija na nižim temperaturama. S druge strane, Purdy (1956.) navodi da se najveće sklerocije formiraju pri temperaturi od 25 °C.

Iako se micelij na podlozi razvio, na najvišoj temperaturi (30 °C) nije došlo do formiranja sklerocija. Iste rezultate potvrdili su i drugi autori koji navode da do formiranja sklerocija ne dolazi pri višim temperaturama (Cuong i Dohroo, 2006., Abawi i Grogan, 1975.). Pronalazak čimbenika koji negativno utječu na produkciju i klijavost sklerocija ili ih inhibiraju i tako prekidaju životni ciklus gljive značajni su zbog mogućnosti njene kontrole i suzbijanja (Le Tourneau, 1979.).

Podrijetlo micelija nije bitno utjecalo na brojnost sklerocija te se na miceliju razvijenom iz micelija u prosjeku razvilo 54,5, a na miceliju razvijenom iz sklerocija u prosjeku 49,5 sklerocija.

Oblik formiranih sklerocija na obje temperature bio je okruglast. Kohn (1979.) navodi da su sklerocije *S. sclerotiorum* najčešće okruglaste do cilindrične, ali mogu biti poprilično varijabilne u obliku. Vrlo često oblik sklerocija ovisi i o domaćinu iz kojeg je patogen izoliran (Huang, 1985.).

S. sclerotiorum značajan je uzročnik bolesti i može uništiti i uzrokovati propadanje plodova, bilo da do zaraze dođe tijekom vegetacije (Lobo Jnr i sur., 2000., Spotts i Cervantes, 1996.) ili tijekom skladištenja (Finlayson i sur., 1989.).

Na plodovima mrkve, rajčice i krastavca umjetno inficiranim micelijem i sklerocijama *S. sclerotiorum* došlo je do pojave patoloških promjena i simptoma truleži.

Plodove rajčice zaražene *S. sclerotiorum* najbrže je zahvatila trulež i to već drugog dana od početka pokusa. Petog dana uočena je pojava bujnog bijelog micelija i formiranje sklerocija. Prema Sherf i Macnab (1986.) na zaraženim plodovima rajčice tijekom transporta i u skladištu dolazi do pojave lezija, koje se razmekšavaju te se ubrzo na njima formira bijeli micelij i sklerociji.

Na zaraženim plodovima krastavca je nakon četiri dana uočena pojava sivosmeđih lezija s razmekšanim tkivom te je u konačnici došlo do njihovog potpunog propadanja. Slično navodi i Zakeri (1998.) prema kojem na plodovima krastavca dolazi do omekšavanja tkiva i pojave bijelog micelija, a plodovi propadaju u roku od tri do pet dana.

S druge strane, na plodovima mrkve došlo je najkasnije do pojave simptoma, tek 7. dana od početka pokusa. Tkivo u lezijama bilo je razmekšano i tamnije boje te su neki plodovi potpuno propali. Kora i sur. (2005.) navode da se na zaraženim mrkvama razvijaju vodenaste i razmekšane lezije, tkivo potamni te se na njemu razvije bijeli micelij.

Izvor zaraze (micelij/sklerocij) i uvjeti čuvanja, odnosno abiotski čimbenici (klima komora/dnevno svjetlo) također su utjecali na agresivnost bolesti kod krastavca i mrkve. Naime, na krastavcu sklerocije nisu uopće klijale niti izazvale zarazu neovisno o načinu čuvanja. Sklerocije su na plodu mrkve klijale u micelij, no u uvjetima dnevnog svjetla tek je pri kraju pokusa uočen začetak micelija, dok je u klima komori na plodu izmjerena lezija

od 8,5 mm. S druge strane, plod krastavca zaražen micelijem u potpunosti je propao i to puno brže u klima komori bez prisustva svjetla nego na dnevnom svjetlu. Isto tako, plod mrkve zaražen micelijem je u termostatskoj komori propao, a na plodu na dnevnom svjetlu nije bilo oštećenja. Micelij je kao izvor zaraze bio mnogo agresivniji, a uvjeti klime komore bez prisutva svjetla pogodovali su bržem propadanju zaraženih plodova. Kod rajčice pak izvor zaraze nije imao značajnu ulogu, budući da svi zaraženi plodovi bili jednako oštećeni.

Na svim plodovima na kojima je ostvarena zaraza, bez obzira na izvor infekcije i uvjete čuvanja, došlo je do pojave lezija, maceracije tkiva, odnosno propadanja cijelih plodova, čime je potvrđena patogenost *S. sclerotiorum* na mrkvu, rajčicu i krastavac, odnosno njihove plodove nakon berbe. Faktori patogenosti za uspostavljanje odnosa domaćin-parazit su otpuštanje litičkih enzima i oksalne kiseline iz micelija *S. sclerotiorum* (Fernando i sur., 2004.). Brojni enzimi za razgradnju stanične stijenke uzrokuju maceraciju tkiva, nekrozu i uginuće domaćina. Razgradnja staničnih stijenki olakšava ulazak u tkivo domaćina te istodobno oslobađanje nutrijenata koje gljiva koristi (Bolton i sur., 2006.). Proizvodnja oksalne kiseline dovodi do smanjenja pH vrijednosti što pogoduje visokoj enzimskoj aktivnosti (Bateman i Beer, 1965.), a velike količine oksalne kiseline imaju toksični učinak na tkivo domaćina i čine ga podložnim daljnjem napadu patogena (Bolton i sur., 2006.).

6. Zaključak

Niz pokusa proveden je u svrhu utvrđivanja utjecaja različitih podloga, temperatura i podrijetla (micelij/sklerocij) na rast i razvoj micelija i sklerocija gljive *S. sclerotiorum*, te praćenja razvoja bolesti na plodovima mrkve, rajčice i krastavca.

Nakon provedenih pokusa i dobivenih rezultata doneseni su sljedeći zaključci:

- A. Podloga, temperatura i podrijetlo (micelij/sklerocij) imali su značajan utjecaj na razvoj micelija i pojavu sklerocija *S. sclerotiorum*.
- Neovisno o temperaturi i podrijetlu, na PDA podlozi porast micelija je bio statistički značajno veći nego na podlozi od mrkve.
 - Razvoj micelija na jednoj i drugoj podlozi je bio slabiji na 30 °C u odnosu na 22 °C i 15 °C.
 - Razlika u razvoju micelija iz sklerocija i micelija na dvije niže temperature na PDA podlozi nije bilo, dok je na podlozi od mrkve iz sklerocija najbrži porast (90 mm) utvrđen na 22 °C, a najbrži porast iz micelija bio je na 15 °C (90 mm).
 - Trećeg dana od postavljanja pokusa, micelij nastao iz micelija se proširio na cijelu petrijevku i to na PDA podlozi na temperaturi od 22 °C iz čega se može zaključiti kako su ti uvjeti odgovarali njegovom najbržem razvoju.
 - Razvoj sklerocija, njihova brojnost i krupnoća na PDA podlozi ovisili su o temperaturi, pri čemu je temperatura od 22 °C pogodovala razvoju većeg broja sitnijih, a temperatura od 15 °C manjem broju krupnijih sklerocija. Na brojnost sklerocija podrijetlo micelija nije bitno utjecalo, iako se na miceliju razvijenom iz micelija u prosjeku razvio nešto veći broj sklerocija.
- B. Agresivnost patogena pri umjetnoj infekciji na plodove mrkve, rajčice i krastavca ovisila je o abiotским faktorima (termostat komora/dnevno svjetlo), podrijetlu (sklerocij/micelij) i vrsti domaćina.
- Kod infekcije mrkve, bolest je bila najagresivnija na plodu zaraženom micelijem i čuvanom u termostat komori. Plod je četrnaest dana od infekcije u potpunosti propao.

- U odnosu na mrkvu, plodovi rajčice su propali znatno ranije te je bez obzira na podrijetlo micelija, trulež zahvatila više od 50% površine plodova na kojima je došlo i do pojave sklerocija.
- Na krastavcu je podrijetlo bolesti imalo važnu ulogu pa na plodovima zaraženim sklerocijama nije došlo do razvoja truleži. Plodovi zaraženi micelijem u potpunosti su propali sedam , odnosno 11 dana nakon infekcije, iz čega se može zaključiti da je bolest bila agresivnija, odnosno brže se razvijala na plodu u termostat komori.
- S obzirom da je na svim plodovima, bez obzira na način infekcije i uvjete čuvanja, došlo do pojave patogenih promjena i propadanja, potvrđena je patogenost *S. sclerotiorum* na ispitivane domaćine odnosno potencijal uzročnika da čini štete na njihovih plodovima nakon berbe i tijekom čuvanja.

7. Popis literature

1. Abawi, G.S, Grogan, R.G. (1975.): Source of Primary Inoculum and Effects of Temperature and Moisture on Infection of Beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 65: 300-309.
2. Abdullah, M. T., Ali, N.Y., Suleman, P. (2008.): Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Production*, 27: 1354-1359.
3. Adams, P.B., Ayers, W.A. (1979.): Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69: 896-899.
4. Adams, P.B., Tate, C.J. (1976.): Mycelial germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* on soil. *Plant Disease Report*, 60: 515-518.
5. Agrios, G.N. (1997.): *Plant Pathology*. Academic Pres, California, p. 635.
6. Anonymous (1970.): Carrot. *Canadian Plant Disease Survey*, 50: 20.
7. Barkai-Golan, R. (2001.): *Postharvest diseases of fruits and vegetables*. Elsevier Science B.V., The Netherlands.
8. Bateman, D.F., Beer, S.V. (1965.): Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotinia rolfsii*. *Phytopathology*, 55: 204-211.
9. Boland, G.J., Hall, R. (1994.): Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16: 93-108.
10. Bolton, M.D., Thomma, B.P.H.J., Nelson, B.D. (2006.): *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 7(1): 1-16.
11. Coley-Smith, J.R., Cooke, R.C. (1971.): Survival and germination of fungal sclerotia. *Annual Review of Phytopathology*, 9: 65-92.
12. Coung, N.G., Dohroo, N.P. (2006.): Morphological, cultural and physiological studies on *Sclerotinia sclerotiorum* causing stalk root of cauliflower. *Omonrice*, 14: 71-77.
13. Cvjetković, B., Bažok, R., Igrc Barčić, J., Barić, K., Ostojić, Z. (2014.): Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite* 14(1-2): 1-222.
14. Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K., Kaučić, D. (2012.): Survival of buried *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia in undisturbed soil. *Helia*, 35(56): 73-78.

15. Danielson, G.A., Nelson, B.D., Helms, T.C. (2004.): Effect of *Sclerotinia* stem rot on yield of soybean inoculated at different growth stages. *Plant Disease*, 88: 297–300.
16. Davis, J.R., Pavek, J.J., Corsini, D.L., Sorensen, L.H., Schneider, A.T., Huisman, O.C. (1994.): Influence of continuous cropping of several potato clones of the epidemiology of *Verticillium* wilt of potato. *Phytopathology*, 84: 207-214.
17. Dillard, H.R., Ludwig, J.W., Hunter, J.E. (1995.): Conditioning Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* for Carpogenic germination. *Plant Disease*, 79(4): 411-415.
18. Fernando, W.G.D., Nakkareen, S., Zhang, Y. (2004.): Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. U: Recent Research Development in Environmental Biology, Pandalai, S.G. (ur.). Trivandrum: Research Signpost, India. pp. 329-347.
19. Fernando, W.G.D., Nakkeeran, S., Zhang, Y., Sacvchuk, S. (2007.): Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. *Crop Protection*, 26: 100-107.
20. Finlayson, J.E., Rimmer, S.R., Pritchard, M.K. (1989.): Infection of carrots by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 11: 242-246.
21. Geary, J.R. (1978.): Host-parasitic interactions between the cultivated carrot (*Daucus carota* L.) and *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Ph.D. Thesis, School of Biological Sciences, University of East Anglia, East Anglia, UK.
22. Harvey, I.C., Foley, L.M., Saville, D.J. (1995.): Survival and germination of shallow-buried sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in pasture in Canterbury. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38: 279-284.
23. Hoes, J.A., Huang, H.C. (1975.): *Sclerotinia sclerotiorum*: viability and separation of sclerotia from soil. *Phytopathology*, 65: 1431–1432.
24. Huang, H. C. (1985.): Factors affecting myceliogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 75: 433-437.
25. Humpherson-Jones, F.M., Cooke, R.C. (1977.): Morphogenesis in sclerotium-forming fungi II. Rhythmic production of sclerotia by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *New Phytopathology*, 78: 181-187.
26. Jeon, Y.-J., Kwon, H.-W., Nam, J.-S., Kim, S.H. (2006.): Characterization of *Sclerotinia sclerotiorum* Isolated from Paprika. *Mycobiology*, 34(3): 154-157.

27. Jurković, D., Ćosić, J. (2004.): Bolesti suncokreta. U: Suncokret (*Helianthus annuus* L.), Vratarić i sur. (ur.). Poljoprivredni institut Osijek, 283-328.
28. Jurković, D., Vrandečić, K. (2009.): Bolesti povrća. U: Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u uzgoju povrća, Raspudić, E. (ur.), Osječko-baranjska županija, Osijek, 18-32.
29. Kim, W.G., Cho, W.D. (2003.): Occurrence of Sclerotinia Rot in Solanaceous Crops Caused by *Sclerotinia* spp. *Mycobiology*, 31(2): 113-118.
30. Kohn, L. M. (1979.): A monographic revision of the genus *Sclerotinia*. *Mycotaxon*, 9: 365-444.
31. Koponen, H., Valkonen, J.P.T. (1996.): Unique symptoms on stored carrots and white mold on hairy vetch caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Finland. *Plant Disease*, 80: 599.
32. Kora, C., McDonald, M.R., Boland, G.J. (2005.): Epidemiology of sclerotinia rot of carrot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27: 245-258.
33. Kora, C., McDonald, M.R., Boland, G.J. (2003.): Sclerotinia rot of carrot: an example of phenological adaptation and bicyclic development of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 87: 456-470.
34. Le Tourneau, D. (1979.): Morphology, Cytology, and Physiology of *Sclerotinia* Species in Culture. *Phytopathology*, 69(8): 887-890.
35. Li, G.Q., Huang, H.C., Acharya, S.N. (2003.): Antagonism and biocontrol potential of *Ulocladium atrum* on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biological Control*, 28: 11-18.
36. Lobo Jnr, M., Lopes, C.A., Silva, W.L.C. (2000.): Sclerotinia rot losses in processing tomatoes grown under centre pivot irrigation in central Brazil. *Plant pathology*, 49: 51-56.
37. Mordue, J.E.M., Holliday, P. (1998.): *Sclerotinia sclerotiorum*, IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. (52) Sheet 513, CABI Bioscience, Bakeham Lane, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK.
38. Murakawa, S., Funakawa, S., Satomura, Y. (1975.): Some physical and chemical on formation of sclerotia in *Sclerotinia libertiana* Fuckel. *Agricultural and Biological Chemistry*, 39: 463-468.
39. Onaran, A., Yanar, Y. (2011.): Screening bacterial species for antagonistic activities against the *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary causal agent of

- cucumber white mold disease. *African Journal of Biotechnology*, 10(12): 2223-2229.
40. Onaran, A., Yanar, Y. (2009.): Distribution, pathogenicity and mycelial compatibility groups of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, causal agent of white mold disease of cucumber, in greenhouses in the vicinity of Tokat and Amasya. *Research Journal of Agricultural Science*, 1(2): 63-68.
 41. Purdy, L.H. (1979.): *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. *Phytopathology*, 69: 875-880.
 42. Purdy, L.H. (1956.): Factors affecting apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 46: 409-410.
 43. Purdy, L.H., Grogan, R.C. (1954.): Physiological studies of *Sclerotinia sclerotiorum* in liquid and agar culture. *Phytopathology*, 44: 36-38.
 44. Quentin, U. (2004.): *Sclerotinia sclerotiorum*, occurrence and control. *Kartoffellbau*, 8: 318-319.
 45. Ritchie, F., Bain, R.A., McQuilken, M.P. (2009.): Effects on nutrient status, temperature and pH on mycelial growth, sclerotial production and germination of *Rhizoctonia solani* from potato. *Journal of Plant Pathology*, 91(3): 589-596.
 46. Rollins, J.A., Dickman, M.B. (1998.): Increase in endogenous and exogenous cyclic AMP levels inhibits sclerotial development in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Applied Environmental Microbiology*, 64: 2539-2544.
 47. Saharan, G.S., Mehta, N. (2008.): *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Crop Management. Springer Science & Business Media, The Netherlands.
 48. Sharma, P., Meena, P.D., Kumar, S., Chauhan, J.S. (2013.): Genetic diversity and morphological variability of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of oilseed Brassica in India. *African Journal of Microbiology Research*, 7(18): 1827-1833.
 49. Sherf, A.F., Macnab, A.A. (1986.): *Vegetable Diseases and Their Control*. Vol. II, Wiley, New York, 728 p.
 50. Spotts, R.A., Cervantes, L.A. (1996.): Sclerotinia Rot on Pears in Oregon. *Plant Disease*, 80: 1262-1264.
 51. Šubić, M. (2009.): Bijela trulež rajčice, kako se uzgaja rajčica. 26.06.2014., Dostupno na: <http://www.medjimurje.hr/savjeti/bijela-trulez-rajcice-kako-se-uzgaja-rajcica>

52. Walker, J.C. (1969.): Plant Pathology, 3rd ed. McGraw-Hill, New York, 819 p.
53. Willets, H.J., Wong, J.A.L. (1980.): The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. The Botanical Review, 46: 101-165.
54. Yanar, Y., Sahin, F., Miller, S.A. (1996.): First report of stem and fruit rot of pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Ohio. Plant Disease, 80: 342.
55. Zakeri, Z. (1998.): *Sclerotinia* rot in green house grown cucumbers. Iranian Journal of Plant Pathology, 34: 233–234.
56. Zarani, F., Christensin, C. (1997.): Sclerotial biogenesis in basidiomycetes *Sclerotium rolfsii*. Scanning electron microscopic study. Mycologia, 89: 598-602.

8. Sažetak

U laboratorijskim uvjetima istraživao je utjecaj različitih podloga (PDA i podloga od mrkve), temperatura (15, 22 i 30 °C) i podrijetla (micelij/sklerocij) na rast i razvoj micelija i formiranje sklerocija gljive *Sclerotinia sclerotiorum*. Također je izvršena umjetna infekcija plodova mrkve, rajčice i krastavca micelijem i sklerocijama *S. sclerotiorum* u svrhu praćenja razvoja bolesti u uvjetima dnevnog svjetla i u termostatu komori. U prosjeku, neovisno o temperaturi i podrijetlu, na PDA podlozi promjer micelija je bio statistički značajno veći (75,8 mm) nego na podlozi od mrkve (48,5 mm). Temperatura je imala značajan utjecaj na razvoj micelija, pa je na obje podloge porast micelija bio slabiji na 30 °C u odnosu na 22 °C i 15 °C. Razlika u razvoju micelija iz sklerocija i micelija ovisila je o podlozi i temperaturi. Razvoj sklerocija, njihova brojnost i krupnoća na PDA podlozi ovisili su o temperaturi, pri čemu je temperatura od 22 °C pogodovala razvoju većeg broja sitnijih, a temperatura od 15 °C manjem broju krupnijih sklerocija. Agresivnost patogena pri umjetnoj infekciji na plodove mrkve, rajčice i krastavca ovisila je o uvjetima čuvanja (termostatska komora/dnevno svjetlo), podrijetlu (sklerocij/micelij) i domaćinu. Plod mrkve u potpunosti je propao nakon dva tjedna, a najizraženiji simptomi uočeni su pri zarazi micelijem i čuvanju u termostatu komori. Trulež je zahvatila preko 50% površine plodova rajčice devet dana nakon infekcije, te je došlo do formiranja micelija i sklerocija. Krastavci zaraženi micelijem propali su neovisno o uvjetima čuvanja, dok se bolest pri zarazi sklerocijama nije razvila.

Ključne riječi: *Sclerotinia sclerotiorum*, podloga, temperatura, micelij, sklerocije, plodovi

9. Summary

The influence of different nutrition media (PDA and Carrot agar), temperature (15, 22 and 30 °C) and origin (mycelium/sclerotium) on growth and development of mycelium and sclerotium formation of *Sclerotinia sclerotiorum* was researched under laboratory conditions. Carrot, tomato and cucumber fruits were artificially infected with mycelium and sclerotium of *S. sclerotiorum* in order to evaluate the development of disease in daylight conditions and thermostat chamber. On average, regardless of the temperature and origin, the mycelium diameter was significantly higher on PDA (75.8 mm) than on Carrot agar (48.5 mm). The temperature had significant influence on mycelium development so the growth of mycelium was lower at 30 °C compared to 22 °C and 15 °C on both substrates. The difference in the development of mycelium from sclerotia and mycelium depended on the nutrition media and temperature. The development, number and size of sclerotium on PDA depended on temperature, where the temperature of 22 °C favored the development of a greater number of smaller, and the temperature of 15 °C a smaller number of larger sclerotium. The pathogenicity of the isolate in the artificial infection of carrot, tomato and cucumber fruits depended on storage conditions (thermostat chamber/daylight), origin (sclerotium/mycelium) and host. Carrot fruits completely collapsed after two weeks, and the most pronounced symptoms were observed when they were infected with mycelium and kept in the thermostat chamber. Nine days after infection the rot has spread to more than 50% of the tomato fruit surface and mycelium and sclerotium formation was observed. Cucumbers infected with mycelium collapsed regardless of the storage conditions, while the disease has not developed from sclerotium.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*, nutrition media, temperature, mycelium, sclerotium, fruits

10. Popis tablica

Red. br.	Naziv tablice	Str.
Tablica 1.	Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> (3. dan).....	15
Tablica 2.	Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> (5. dan).....	17
Tablica 3.	Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> (7. dan).....	18
Tablica 4.	Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> (12. dan).....	19
Tablica 5.	Utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> (14. dan).....	20
Tablica 6.	Razvoj bijele truleži na plodovima mrkve.....	24
Tablica 7.	Razvoj bijele truleži na plodovima krastavca.....	27

11. Popis slika

Red. br.	Naziv slike	Str.
Slika 1.	Razvoj kulture <i>S. sclerotiorum</i> u laminariju.....	11
Slika 2.	Infekcija plodova mrkve sklerocijama i micelijem <i>S. sclerotiorum</i>	12
Slika 3.	Infekcija plodova rajčice sklerocijama i micelijem <i>S. sclerotiorum</i>	13
Slika 4.	Infekcija plodova krastavca sklerocijama <i>S. sclerotiorum</i>	14
Slika 5.	Razvoj micelija iz sklerocija na podlozi od mrkve i temperaturi od 30 °C	21
Slika 6.	Razvoj micelija iz micelija na podlozi od mrkve i temperaturi od 30 °C...	22
Slika 7.	Pojava sklerocija na PDA podlozi na temperaturi od 15 °C.....	22
Slika 8.	Pojava sklerocija na PDA podlozi na temperaturi od 22 °C.....	23
Slika 9.	Mrkva zaražena micelijem <i>S. sclerotiorum</i>	24
Slika 10.	Mrkva zaražena sklerocijom držana u termostat komori.....	25
Slika 11.	Razvoj micelija i formiranje sklerocija (zaraza sklerocijama).....	26
Slika 12.	Razvoj micelija u termostat komori (7. dan).....	27
Slika 13.	Razvoj micelija na dnevnom svjetlu (7. dan).....	28
Slika 14.	Razvoj micelija na dnevnom svjetlu (9. dan).....	28
Slika 15.	Zaraza ploda krastavca sklerocijom i izostanak pojave simptoma (18. dan).....	28

12. Popis grafikona

Red. br.	Naziv grafikona	Str.
Grafikon 1.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na PDA podlozi (3. dan mjerenja).....	16
Grafikon 2.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na mrkvi (3. dan mjerenja).....	16
Grafikon 3.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na podlogama (5. dan mjerenja).....	17
Grafikon 4.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na podlogama (7. dan mjerenja).....	18
Grafikon 5.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na podlogama (12. dan mjerenja).....	19
Grafikon 6.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na PDA podlozi (14. dan mjerenja)....	20
Grafikon 7.	Razvoj micelija <i>S. sclerotiorum</i> na podlozi od mrkve (14. dan mjerenja).....	21

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Zaštita bilja

Diplomski rad

Patogenost *Sclerotinia sclerotiorum* za mrkvu, rajčicu i krastavac

Ivan Mikić

Sažetak

U laboratorijskim uvjetima istraživao je utjecaj različitih podloga (PDA i podloga od mrkve), temperatura (15, 22 i 30 °C) i podrijetla (micelij/sklerocij) na rast i razvoj micelija i formiranje sklerocija gljive *Sclerotinia sclerotiorum*.

Također je izvršena umjetna infekcija plodova mrkve, rajčice i krastavca micelijem i sklerocijama *S. sclerotiorum* u svrhu praćenja razvoja bolesti u uvjetima dnevnog svjetla i u termostat komori. U prosjeku, neovisno o temperaturi i podrijetlu, na PDA podlozi promjer micelija je bio statistički značajno veći (75,8 mm) nego na podlozi od mrkve (48,5 mm). Temperatura je imala značajan utjecaj na razvoj micelija, pa je na obje podloge porast micelija bio slabiji na 30 °C u odnosu na 22 °C i 15 °C. Razlika u razvoju micelija iz sklerocija i micelija ovisila je o podlozi i temperaturi. Razvoj sklerocija, njihova brojnost i krupnoća na PDA podlozi ovisili su o temperaturi, pri čemu je temperatura od 22 °C pogodovala razvoju većeg broja sitnijih, a temperatura od 15 °C manjem broju krupnijih sklerocija. Agresivnost patogena pri umjetnoj infekciji na plodove mrkve, rajčice i krastavca ovisila je o uvjetima čuvanja (termostat komora/dnevno svjetlo), podrijetlu (sklerocij/micelij) i domaćinu. Plod mrkve u potpunosti je propao nakon dva tjedna, a najizraženiji simptomi uočeni su pri zarazi micelijem i čuvanju u termostat komori. Trulež je zahvatila preko 50% površine plodova rajčice devet dana nakon infekcije, te je došlo do formiranja micelija i sklerocija. Krastavci zaraženi micelijem propali su neovisno o uvjetima čuvanja, dok se bolest pri zarazi sklerocijama nije razvila.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 45

Broj grafikona i slika: 22

Broj tablica: 7

Broj literaturnih navoda: 56

Broj priloga: -

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Sclerotinia sclerotiorum*, podloga, temperatura, micelij, sklerocije, plodovi

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. Prof. dr. sc. Nada Parađiković, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilište u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Faculty of Agriculture

University Graduate Studies, Plant production, course Plant Protection

Graduate thesis

Pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* for carrot, tomato and cucumber

Ivan Mikić

Abstract

The influence of different nutrition media (PDA and Carrot agar), temperature (15, 22 and 30 °C) and origin (mycelium/sclerotium) on growth and development of mycelium and sclerotium formation of *Sclerotinia sclerotiorum* was researched under laboratory conditions. Carrot, tomato and cucumber fruits were artificially infected with mycelium and sclerotium of *S. sclerotiorum* in order to evaluate the development of disease in daylight conditions and thermostat chamber. On average, regardless of the temperature and origin, the mycelium diameter was significantly higher on PDA (75.8 mm) than on Carrot agar (48.5 mm). The temperature had significant influence on mycelium development so the growth of mycelium was lower at 30 °C compared to 22 °C and 15 °C on both substrates. The difference in the development of mycelium from sclerotia and mycelium depended on the nutrition media and temperature. The development, number and size of sclerotium on PDA depended on temperature, where the temperature of 22 °C favored the development of a greater number of smaller, and the temperature of 15 °C a smaller number of larger sclerotium. The pathogenicity of the isolate in the artificial infection of carrot, tomato and cucumber fruits depended on storage conditions (thermostat chamber/daylight), origin (sclerotium/mycelium) and host. Carrot fruits completely collapsed after two weeks, and the most pronounced symptoms were observed when they were infected with mycelium and kept in the thermostat chamber. Nine days after infection the rot has spread to more than 50% of the tomato fruit surface and mycelium and sclerotium formation was observed. Cucumbers infected with mycelium collapsed regardless of the storage conditions, while the disease has not developed from sclerotium.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: DSc Jasenka Ćosić, Full Professor

Number of pages: 45

Number of figures: 22

Number of tables: 7

Number of references: 56

Number of appendices: -

Original in: Croatian

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*, nutrition media, temperature, mycelium, sclerotium, fruits

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. DSc Karolina Vrandečić, Associate Professor, chair
2. DSc Jasenka Ćosić, Full Professor, mentor
3. DSc Nada Parađiković Full Professor, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d